

F-201/248

EJU

BREVET D'INVENTION

09/937558

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 07 FEV. 2001

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1 a) OU b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30
<http://www.inpi.fr>

This Page Blank (uspto)

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

26 bis. rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

27 JAN 2000
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT
69 INPI LYON

DATE DE DÉPÔT

0001065 27 JAN. 2000

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

IXAS CONSEIL
15 rue Emile Zola
69002 LYON

TILLOY Anne-Marie

n° du pouvoir permanent références du correspondant **BR1342/FR** téléphone **04.78.37.75.16**

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention

☐ demande divisionnaire



demande initiale

☐ certificat d'utilité

☐ transformation d'une demande
de brevet européen



☐ brevet d'invention

☐ certificat d'utilité n°

date

Établissement du rapport de recherche

☐ différé

☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

☐ oui

☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

MEMBRANE SEMI-PERMEABLE NON THROMBOGENE ET PROCEDE DE FABRICATION.

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN **9.5.7.5.0.0.3.1.7**

code APE-NAF

3.3.1.B

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

HOSPAL INDUSTRIE

Forme juridique

Société Anonyme

Nationalité (s) **Française**

Adresse (s) complète (s)

7 avenue Lionel Terray
69883 MEYZIEU CEDEX

Pays

FRANCE

En cas d'insuffisance de place : poursuivre sur papier libre

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

oui

☒ non

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

requis pour la 1ère fois

requis antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS

antérieures à la présente demande

n°

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

(nom et qualité du signataire)

TILLOY Anne-Marie, Mandataire
(422-5/PP.017)

SIGNATURE DU PREPOSE À LA RECEPTION

SIGNATURE APRES ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE A L'INPI

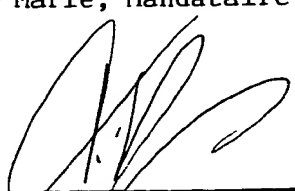
DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1. / 1.
(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

08 113 W. 260899

Vos références pour ce dossier (facultatif)		BR1342/FR	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0001065	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Membrane semi-perméable non thrombogène et procédé de fabrication.			
LE(S) DEMANDEUR(S) : HOSPAL INDUSTRIE 7 avenue Lionel Terray 69883 MEYZIEU CEDEX			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		CROST	
Prénoms		Thierry	
Adresse	Rue	49 route de la Charrière	
	Code postal et ville	01800	ST MAURICE DE GOURDANS
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		RENAUX	
Prénoms		Jean-Louis	
Adresse	Rue	36 rue de Margnolles	
	Code postal et ville	69300	CALUIRE
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		THOMAS	
Prénoms		Michel	
Adresse	Rue	84 avenue du Dauphiné	
	Code postal et ville	69360	SEREZIN DU RHONE
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		Le 17 février 2000 TILLOY Anne-Marie, Mandataire 	

MEMBRANE SEMI-PERMEABLE NON THROMBOGENE ET PROCEDE DE FABRICATION

- La présente invention se situe dans le domaine du traitement du sang et du plasma par circulation extracorporelle, notamment par dialyse, hémofiltration et plasmaphérèse. Elle a pour objet une membrane semi-perméable composite comprenant une membrane semi-perméable support revêtue d'un agent anticoagulant, réduisant le caractère thrombogène du support.
- La présente invention a également pour objet des échangeurs pour le traitement du sang ou du plasma par circulation extracorporelle, comprenant cette membrane semi-perméable composite ainsi que des procédés de fabrication de ces échangeurs.
- Par membrane semi-perméable, on entend, dans l'ensemble de ce texte, une membrane semi-perméable plane ou un faisceau de fibres creuses semi-perméables. Egalement, par échangeur, on entend, dans l'ensemble de ce texte, un échangeur pour le traitement du sang ou du plasma par circulation extracorporelle qui comprend, d'une manière générale, deux compartiments séparés par une membrane semi-perméable, munis chacun de deux accès, un premier compartiment étant destiné à la circulation du sang ou du plasma du patient, et un second compartiment étant destiné à la circulation de liquide usé.
- Le traitement du sang ou du plasma d'un patient urémique nécessite l'utilisation d'un circuit extracorporel de sang connecté à un échangeur. Le sang, dans le circuit extracorporel, est soumis à un risque thrombotique majeur qu'il faut prévenir par une anticoagulation efficace. C'est pourquoi, bien que les matériaux utilisés pour la fabrication des échangeurs soient choisis pour être aussi biocompatibles que possible de façon que, en particulier, les réactions de coagulation ne se produisent pas ou à des niveaux relativement bénins, on injecte habituellement, dans le sang du patient, un agent anti-coagulant.
- Dans la pratique courante, l'anticoagulation du sang, qui est généralement réalisée au moyen d'héparine (fractionnée ou non), pose rarement de difficultés. Chez certains patients cependant l'héparine peut provoquer des réactions secondaires indésirables, en particulier des hémorragies. D'autres effets secondaires rapportées dans la littérature sont des thrombocytopénies

(chute du nombre de plaquettes), des allergies, des ostéoporoses (constatées dans le cas d'une administration prolongée d'héparine), des augmentations des transaminases (enzymes hépatiques) et des hyperlipidémies. La sensibilité à l'héparine est variable d'un patient à un autre et, dans le temps, pour un patient donné.

Par ailleurs, la quantité d'héparine injectée au patient, qui varie classiquement de 7.500 à 11.000 unités internationales (UI) par séance de traitement, voire plus dans certains cas, représente un coût additionnel non négligeable.

Pour les patients à haut risque hémorragique, il existe une méthode de traitement extracorporel du sang sans anticoagulant qui consiste à prévenir la thrombose du sang dans le circuit de circulation extracorporelle et dans le dialyseur grâce à des rinçages fréquents du circuit et du dialyseur avec du sérum physiologique pour en chasser les thrombis en formation. Cette méthode implique des débits élevés de circulation du sang qui ne sont pas toujours tolérés par les patients.

~~En outre, ce traitement sans anticoagulant, qui est techniquement difficile,~~ nécessite une formation spécifique des soignants, le respect rigoureux du protocole opératoire; une surveillance stricte de la dialyse pour prévenir les incidents, le dépistage précoce des incidents pour pouvoir les surmonter.

Dans le but d'éviter l'injection d'anticoagulant dans le circuit extracorporel de sang, de nombreux travaux de recherche ont été entrepris afin d'améliorer l'hémocompatibilité des membranes semi-perméables en fixant de l'héparine sur la surface de la membrane destinée à être mise en contact avec le sang, à l'aide d'une liaison ionique ou covalente (voir J. Pelissié « Héparinisation de surface » dans RBM (1994) 16, 7, 290-291).

Les techniques décrites de fixation ionique de l'héparine visent à créer des groupements amines quaternaires sur la surface de la membrane semi-perméable à traiter. L'héparine, qui est chargée négativement par ses groupements sulfates et carboxyliques, peut réagir avec des groupements amines quaternaires. Mais, il a été constaté un relargage rapide d'héparine dû à la faiblesse de la liaison intermoléculaire, ce qui présente l'inconvénient de réduire le caractère antithrombogénique des surfaces destinées à être en contact avec le sang et de favoriser l'apparition d'effets secondaires

indésirables dus à l'héparine libérée. Pour compenser le relargage continu d'héparine, des quantités importantes de cet anticoagulant doivent être fixées sur la membrane, ce qui a pour conséquence de rendre difficile la maîtrise de l'anticoagulation du sang du patient et d'avoir un coût élevé.

5

Les techniques décrites de fixation covalente font intervenir des réactions chimiques spécifiques et complexes pour permettre l'accrochage de l'héparine sur les surfaces des matériaux destinées à être mises en contact avec le sang. Cependant ces techniques, parce qu'elles causent une
10 modification substantielle de la nature chimique des matériaux, ne sont généralement pas appropriées aux membranes semi-perméables car elles risqueraient de provoquer une diminution importante des propriétés fondamentales de ces membranes, telles que les capacités de transferts diffusifs et convectifs et la capacité d'adsorption des substances indésirables.
15 En outre, il existe un risque de diminution de l'antithrombogénicité par inactivation de l'héparine.

Le seul échangeur commercialisé à cette date comprenant une membrane semi-perméable traitée avec un agent anticoagulant afin de réduire son
20 caractère thrombogène est l'hémofiltre de dénomination commerciale DURAFLO de la société BAXTER. Cette membrane semi-perméable est à base de polysulfone.

Certaines membranes semi-perméables constituées essentiellement d'un
25 copolymère d'acrylonitrile et d'au moins un monomère anionique ou anionisable, oléfiniquement insaturé, comme le copolymère fabriqué par HOSPAL sous la dénomination commerciale AN69 sont reconnues pour être nettement moins thrombogéniques que les membranes cellulosiques. La mise en œuvre de dialyse sans héparine avec ces membranes nécessite
30 cependant des débits élevés de circulation du sang [au moins 400 ml/min selon l'article « Heparin-free hemodialysis with a polyacrylonitrile membrane », de Robert H. Barth et al., Vol. XXXV Trans Am Soc Artif Intern Organs (1989)], ce qui n'est pas toujours toléré par tous les patients.

35 Un premier objectif de la présente invention est de réduire le caractère thrombogène des membranes semi-perméables constituées essentiellement par un copolymère d'acrylonitrile et d'au moins un monomère anionique et anionisable en fixant, sur ces membranes, un agent anticoagulant, tout en maintenant à un niveau acceptable les autres propriétés fondamentales de

ces membranes, à savoir leur capacité de transferts diffusifs et convectifs (perméabilité à l'eau, perméabilité sélective aux molécules de masse moléculaire en poids inférieure à celle de l'albumine), leur capacité d'adsorption des substances indésirables et leurs propriétés mécaniques.

5

Un second objectif de la présente invention est de fixer, de façon stable, à la surface de membranes semi-perméables constituées essentiellement par un copolymère d'acrylonitrile et d'au moins un monomère anionique et anionisable, un agent anticoagulant pouvant exercer son activité
10 anticoagulante sans être élué et relargué rapidement dans le sang ou le plasma au cours du traitement par circulation extracorporelle.

Un troisième objectif de la présente invention est de réduire la quantité d'agent anticoagulant injectée au patient au cours d'une séance de traitement
15 extracorporel de sang mise en œuvre au moyen d'un échangeur muni d'une membrane semi-perméable constituée essentiellement par un copolymère d'acrylonitrile et d'au moins un monomère anionique et anionisable sur laquelle est fixé un agent anticoagulant.

~~20 Un quatrième objectif de la présente invention est de réduire la quantité totale~~
d'agent anticoagulant, fixé ou non, nécessaire à la mise en œuvre d'une séance de traitement extracorporel de sang au moyen d'un échangeur muni d'une membrane semi-perméable constituée essentiellement par un copolymère d'acrylonitrile et d'au moins un monomère anionique et
25 anionisable sur lesquelles est fixé un agent anticoagulant et, ainsi, de réduire le coût de la séance de traitement et les effets secondaires indésirables de l'agent anticoagulant.

Pour atteindre ces objectifs, on propose conformément à la présente
30 invention, une membrane semi-perméable composite comprenant une membrane semi-perméable support et un agent anticoagulant approprié au traitement du sang et du plasma par circulation extracorporelle, caractérisée en ce que :

- 35
- la membrane semi-perméable support est constituée essentiellement par un polyacrylonitrile, porteur de groupements anioniques ou anionisables ;
 - la surface de la membrane semi-perméable support destinée à être mise en contact avec le sang ou le plasma est revêtue successivement :

5 d'un polymère cationique, porteur de groupements cationiques aptes à former une liaison ionique avec les groupements anioniques ou anionisables du polyacrylonitrile, le polymère cationique comprenant des chaînes de taille suffisante pour ne pas traverser la membrane semi-perméable support ; et

10 d'un agent anticoagulant, porteur de groupements anioniques, aptes à former une liaison ionique avec les groupements cationiques dudit polymère cationique.

15 Conformément à l'invention, les chaînes du polymère cationique présentent un encombrement stérique suffisamment important pour ne pas traverser la membrane semi-perméable support, ce qui permet d'obtenir que ces chaînes se fixent essentiellement à la surface de la membrane, par liaison ionique. Dès lors, la quantité de polymère cationique nécessaire pour traiter la membrane semi-perméable support est modérée puisque l'on ne recherche pas un traitement massique de la membrane semi-perméable support avec pénétration du polymère cationique dans les pores.

20 De préférence, le polymère cationique est préparé par ultrafiltration au moyen d'une membrane semi-perméable qui est identique à la membrane semi-perméable support ou qui possède un seuil de coupure égal ou supérieur à celui de la membrane semi-perméable support, afin d'éliminer les chaînes de polymère cationique pouvant traverser la membrane semi-perméable support.

La membrane semi-perméable composite selon l'invention présente trois avantages majeurs :

30 - premièrement, la fixation par liaison ionique de l'agent coagulant se fait quasiment uniquement à la surface de la membrane semi-perméable. Dès lors, l'agent anticoagulant fixé, qui est accessible aux protéines de la coagulation, peut exercer une activité coagulante efficace au cours d'une séance de traitement de sang et de plasma par circulation extracorporelle.

35 - deuxièmement, le temps de coagulation (TCK pour Temps de Céphaline Activée) d'un sang ou plasma purifié à l'aide de la membrane semi-perméable composite est assez voisin, voire équivalent à celui d'un sang ou d'un plasma normal, non additionné d'agent anticoagulant.

40

- troisièmement, le caractère thrombogène de la membrane semi-perméable composite est très nettement réduit si on le compare à celui de la membrane semi-perméable support qu'elle renferme.

5

Selon une variante de l'invention, le polymère cationique est une polyamine, de préférence hydrophile, et portant des groupements amines primaires, secondaires, tertiaires ou quaternaires. De préférence, le polymère cationique est une polyéthylèneimine (PEI). La quantité de PEI déposée et fixée peut
10 varier entre environ 1 mg et environ 30 mg par m² de membrane (bornes incluses).

L'agent anticoagulant convenant à l'invention ne doit pas être toxique.

15 Selon une autre variante de l'invention, l'agent anticoagulant porteur de groupements anioniques appartient à la famille des glycoaminoglycanes ayant une activité anticoagulante. De préférence, cet agent est essentiellement constitué d'héparine (fractionnée ou non). La quantité d'héparine déposée et fixée peut varier entre environ 500 UI et environ
20 ~~10.000 UI par m² de membrane (bornes incluses).~~ La quantité d'héparine fixée est choisie en fonction des patients à traiter, selon qu'il s'agit de patients chroniques ou de patients dits "aigus". La quantité d'héparine fixée est inférieure à la quantité d'héparine qui est injectée au patient lors d'un traitement classique (laquelle est l'ordre de 7.500 à 11.000 UI ou supérieure
25 dans le cas d'un rinçage de la membrane avec une solution d'héparine avant la mise en circulation du sang dans le circuit extracorporel).

L'invention est adaptée à la préparation de membranes semi-perméables composites à partir d'une membrane semi-perméable support constituée
30 essentiellement par un polyacrylonitrile, porteur de groupements anioniques ou anionisables choisis parmi les groupements sulfonique, phosphonique, carboxylique, sulfurique, phosphorique, et parmi les groupements salifiés correspondants.

35 De préférence, les groupements anioniques ou anionisables du polyacrylonitrile sont des groupements sulfoniques acides ou des groupements sulfoniques salifiés.

Avantageusement, la membrane semi-perméable support est constituée essentiellement de copolymère d'acrylonitrile et de méthallylsulfonate de sodium, tel que le copolymère de dénomination commerciale AN69, fabriqué
5 par HOSPAL, avec lesquels les meilleures performances ont été atteintes.

L'invention a également pour objet un échangeur pour le traitement du sang ou du plasma par circulation extracorporelle comprenant deux compartiments
10 séparés par une membrane semi-perméable ayant une surface orientée vers un premier compartiment destiné à la circulation de sang ou de plasma, caractérisé en ce que la surface de la membrane semi-perméable orientée vers le premier compartiment est revêtue successivement d'un polymère cationique et d'un agent anticoagulant anionique.

15 La membrane semi-perméable composite peut être sous la forme d'une membrane plane ou d'un faisceau de fibres creuses.

De préférence, l'échangeur, qui comprend la membrane semi-perméable composite selon l'invention, est stérilisé et prêt à l'emploi. Ainsi, il ne requiert
20 pas de manipulation spéciale de la part de son utilisateur.

La présente invention a également pour objet un procédé pour réduire le caractère thrombogène d'un échangeur pour le traitement du sang ou du plasma par circulation extracorporelle comprenant deux compartiments
25 séparés par une membrane semi-perméable ayant une surface orientée vers un premier compartiment destiné à la circulation de sang ou de plasma, comprenant les étapes successives suivantes:

(a) préparer une membrane semi-perméable sous la forme d'une
30 membrane plane ou d'un faisceau de fibre creuse, à partir d'une solution de polyacrylonitrile porteur de groupements anioniques ou anionisables;

(b) assembler les divers composants de l'échangeur, en particulier
35 monter la membrane semi-perméable ou un faisceau de fibres creuses dans un boîtier ;

- 5 (c) préparer une solution contenant au moins un polymère cationique, porteur de groupements cationiques aptes à former une liaison ionique avec les groupements anioniques ou anionisables du polyacrylonitrile, le polymère cationique ne comprenant que des chaînes de polymère de taille suffisante pour ne pas traverser la membrane semi-perméable, et porter cette solution au contact de la surface de la membrane semi-perméable destinée à être mise en contact avec le sang ou le plasma, l'étape (c) pouvant être réalisée avant ou après l'étape (b) ; lorsque la membrane semi-perméable est plane, on peut pulvériser la solution du polymère cationique sur la surface de la membrane ;
- 10 (d) dans le cas où l'étape (c) est réalisée postérieurement à l'étape (b), purger l'échangeur de la solution contenant le polymère cationique ;
- 15 (e) préparer une solution contenant au moins un agent anticoagulant à l'état dissous, porteur de groupements anioniques aptes à former une liaison ionique avec les groupements cationiques dudit polymère cationique et porter cette solution au contact de la surface de la membrane semi-perméable destinée à être mise en contact avec le sang, l'étape (e) étant mise en œuvre après l'étape (c), mais avant ou après l'étape (b) ;
- 20 (f) dans le cas où l'étape (e) est réalisée postérieurement à l'étape (b), purger l'échangeur de la solution contenant l'agent anticoagulant.

25 Dans le cas où le polymère cationique est la PEI, l'étape (c) précitée peut être réalisée selon les conditions suivantes :

- ◆ concentration en PEI : 0,04 à 20 g/L
 - ◆ milieu : eau ; eau glycinée ; tampons salins ; solutions salines
 - ◆ pH : 7 à 12
 - 30 ◆ débits de traitement (cas du traitement par circulation dans l'appareil) : 50 à 500 mL/min.
 - ◆ durée : 1 à 30 minutes
 - ◆ circuit ouvert ou circuit fermé
 - ◆ dans ces conditions, la concentration surfacique en PEI est comprise entre 1 et 30 mg/m².
- 35

Dans le cas où l'agent anticoagulant est l'héparine, l'étape (e) précitée peut être réalisée selon les conditions suivantes :

- ◆ concentration en héparine : 1 à 100 UI/L
- 5 ◆ milieu : eau ; eau glycinée ; tampons salins ; solution saline
- ◆ pH : 5 à 10
- ◆ débits de traitement (cas du traitement par circulation dans l'appareil) : 50 à 500 mL/min.
- ◆ durée : 1 à 30 minutes
- 10 ◆ circuit ouvert ou circuit fermé
- ◆ dans ces conditions, la concentration surfacique en héparine est comprise entre 500 et 10.000 UI/m².

15 Eventuellement, la membrane plane ou le faisceau de fibres creuses est glyciné(e) à l'issue de l'étape (a), d'où la nécessité de déglyciner avant d'entreprendre l'étape (c) précitée.

20 Eventuellement, on rince la membrane semi-perméable pour éliminer l'excédent de polymère cationique fixé, soit après l'étape (c) quand l'étape (c) est réalisée avant l'étape (b), ou après l'étape (d).

25 Eventuellement, on rince la membrane semi-perméable pour éliminer l'excédent d'agent anticoagulant non fixé, soit après l'étape (e) quand l'étape (e) est réalisée avant l'étape (b), ou après l'étape (f).

Eventuellement, on reglycine la membrane semi-perméable selon le cas, à l'issue de l'étape (e) ou (f), après les éventuelles étapes de rinçage.

30 Dans le cadre de l'invention, la stérilisation de l'échangeur, sans effet significatif sur la membrane semi-perméable composite, pourra être la stérilisation par irradiation, en particulier par irradiation gamma ou la stérilisation à l'oxyde d'éthylène. La stérilisation de l'échangeur peut être mise en œuvre à deux moments déterminés du procédé de fabrication de l'échangeur.

35 Selon une première variante, on stérilise l'échangeur lorsque la membrane semi-perméable à base de polyacrylonitrile, porteur de groupements anioniques ou anionisables, est revêtue dudit polymère cationique, puis on effectue, de façon extemporanée, le traitement à l'aide de la solution
40 contenant au moins un agent anticoagulant.

Selon une seconde variante, on stérilise l'échangeur lorsque la membrane semi-perméable à base de polyacrylonitrile, porteur de groupements anioniques ou anionisables, est revêtue dudit polymère cationique et dudit agent anticoagulant.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent. On se reportera également aux dessins et figures annexes sur lesquels :

10

- la figure 1 représente les modalités de préparation d'un polymère cationique, tel que la polyéthylèneimine (PEI), par ultrafiltration ;
- la figure 2 représente l'évolution de la concentration de PEI dans l'ultrafiltrat ;
- 15 - la figure 3 représente la distribution des masses moléculaires en poids de la PEI non fractionnée, notée PEI P, (LUPASOL P, de BASF) et de la PEI fractionnée ;
- la figure 4 représente l'évolution du temps de coagulation (TCK) du sang de moutons soumis à un test de circulation extracorporelle à l'aide d'un dialyseur à membrane plane AN69 traité avec de la PEI fractionnée, stérilisé gamma, puis traité extemporanément avec de l'héparine ;
- 20 - la figure 5 représente l'évolution du temps de coagulation (TCK) du sang de moutons soumis à un test de circulation extracorporelle à l'aide d'un dialyseur à fibres creuses AN69 traité avec de la PEI fractionnée, puis hépariné, et enfin stérilisé gamma avant utilisation.

25

Les méthodes de dosage utilisées pour évaluer les membranes semi-perméables décrites sont les suivantes :

30 Traitement des échantillons de sang préalablement aux dosages

Le sang prélevé, en sortie des dialyseurs, au cours des séances de dialyse des exemples qui suivent est mis immédiatement en présence de citrate de sodium qui, par chélation des ions calcium, stoppe toute activité de coagulation. L'échantillon est ensuite centrifugé à température ambiante à 3000 tours par minute, durant 15 minutes. Le plasma surnageant est recueilli et conservé à -20° C jusqu'au moment du dosage.

35

Détermination du temps de coagulation (TCK pour Temps de Céphaline Kaolin)

La détermination du TCK est réalisée au moyen du kit de dosage commercialisé sous la dénomination C.K. PREST® par la société
5 DIAGNOSTICA STAGO.

Le TCK permet d'apprécier l'allongement du temps de coagulation d'un plasma citraté occasionné par le déficit en certains facteurs de la coagulation ou par la présence d'un anticoagulant comme l'héparine. Dans ce dernier cas,
10 l'allongement du temps de coagulation est proportionnel à la quantité d'héparine présente. La détermination du TCK permet donc d'apprécier le niveau d'anticoagulation du sang. La méthode de mesure de ce temps de coagulation (exprimé en seconde) est connue, elle est effectuée après recalcification et ajout d'un activateur.

15

Dosage de l'héparine en milieu non plasmatique

L'héparine est déterminée dans les milieux simples (eau et électrolytes) par spectrophotométrie après formation d'un complexe avec l'azure A (absorption maximale à 630 nm).

20

Test de circulation extracorporelle sur un mouton :

Les dialyseurs testés dans les exemples sont rincés par une solution de sérum physiologique (héparinée ou non) mise en circulation dans le compartiment sang (2 L à 200 mL/min.). Le compartiment dialysat est rempli
25 par ultrafiltration. Selon le cas, le sang du mouton est anticoagulé par injection d'héparine dans la veine jugulaire cinq minutes avant le début de la séance. La circulation sanguine extracorporelle est réalisée au débit de 200 mL/min. à l'aide d'une pompe BSM22 HOSPAL (accès en carotide et restitution en jugulaire). Les pressions d'entrée et de sortie sont enregistrées.
30 La circulation est stoppée lorsque la pression artérielle dépasse 500 mmHg au niveau de l'entrée du dialyseur, traduisant une coagulation dans le circuit.

Exemple 1

35 Cet exemple décrit un procédé de préparation d'un polymère cationique, en l'occurrence une polyéthylèneimine (PEI), visant à éliminer, par fractionnement, les plus petites chaînes de polymères (de faible encombrement stérique) pouvant pénétrer dans les pores de la membrane semi-perméable à traiter, et la traverser.

La figure 1 illustre les modalités de préparation de la PEI qui comprend les étapes suivantes :

5

a - préparation, dans un bac 1, d'une solution de 1,5 litre d'une solution de PEI de masse moléculaire en poids 750 k Dalton (LUPASOL P de BASF), à 50 g par litre, dans l'eau distillée ;

10

b - circulation, en circuit fermé, de cette solution dans le compartiment sang d'un dialyseur 2 à fibres creuses (dénomination commerciale FILTRAL 16, fabriqué par la société HOSPAL INDUSTRIE, France), équipé d'une membrane (surface utile de 1,6 m²) en AN69 (copolymère d'acrylonitrile et de méthallylsulfonate de sodium), au débit de 300 ml par minute ;

15

c - simultanément à l'étape b, ultrafiltration au débit de 60 ml par minute avec apport d'eau dans le bac 1, au même débit.

20

~~La durée de la préparation est de 156 minutes.~~

Le dosage de la PEI présente dans l'ultrafiltrat est déterminé dans l'eau par spectrophotométrie après formation d'un complexe coloré avec le thiocyanate de cobalt II (absorption maximale à 304 nm).

25

L'évolution de la concentration en PEI dans l'ultrafiltrat est donnée sur la figure 2 annexée.

30

Dans les conditions du procédé précité, la quantité de PEI éliminée par ultrafiltration est de 32 g, ce qui représente 43 % de la PEI de départ.

35

La distribution en masses moléculaire (Mw) de la PEI non fractionnée (notée PEI P) et de la PEI fractionnée est déterminée par chromatographe d'exclusion stérique (colonne ultrahydrogel de la société WATERS) et est représentée sur la figure 3 annexée. Sur la figure 3, on voit que la masse molaire des plus petites chaînes de PEI fractionnée est de l'ordre de 10.000 g/mole.

Exemple 2

Exemple de référence 2a

5 Un dialyseur à membrane plane en AN69 (dénomination commerciale CRYSTAL 4000, fabriqué par HOSPAL INDUSTRIE, France), ayant une surface utile de $1,5 \text{ m}^2$ et stérilisé par irradiation gamma, est rincé par circulation dans le compartiment sang de 2 litres de sérum physiologique contenant 5.000 UI d'héparine non fractionnée.

10 Un circuit extracorporel de sang comprenant le dialyseur est ensuite connecté au circuit vasculaire d'un mouton. Aucun anticoagulant n'est injecté dans le sang du mouton.

15 Sur la figure 4, la courbe 1 donne l'évolution du TCK pendant les 30 minutes de circulation du sang. La coagulation est intervenue au bout de 30 minutes.

Exemple 2b selon l'invention

20 Un dialyseur a été fabriqué conformément à l'invention par la société HOSPAL INDUSTRIE (France). Une face d'une membrane plane en AN69, ayant une surface utile de $1,5 \text{ m}^2$, est traitée par pulvérisation de PEI fractionnée (voir exemple 1) à la concentration de 5 g/kg dans un mélange eau/glycérol 40/60 en masse. La quantité de PEI fractionnée déposée est de 10 mg/m^2 .

25 Cette membrane est montée dans un dialyseur de manière que la face traitée soit orientée vers le compartiment sang du dialyseur.

Le dialyseur est ensuite stérilisé par irradiation gamma (36 K Gy).

30 Juste avant son utilisation, le dialyseur stérilisé est rincé à l'aide d'une solution de sérum physiologique et d'héparine non fractionnée comme indiqué dans l'exemple de référence 2a.

35 Un circuit extracorporel de sang comprenant le dialyseur est ensuite connecté au circuit vasculaire d'un mouton. Aucun anticoagulant n'est injecté dans le sang du mouton.

Le sang du mouton a pu être mis en circulation pendant 6 heures dans le circuit extracorporel sans qu'il se produise de coagulation (l'arrêt après 6 heures est volontaire et ne correspond pas à une coagulation du sang dans le circuit). La courbe 2 de la figure 4 donne le niveau de TCK pendant toute la
5 durée de la circulation. Le TCK reste à une valeur normale témoignant une absence de libération d'héparine, alors que, habituellement, un TCK supérieur à 100 secondes est nécessaire pour le bon déroulement d'un traitement de sang dans un circuit de circulation extracorporelle.

10

Exemple 3

Exemple de référence 3a

15 Un dialyseur (dénomination commerciale FILTRAL 20, fabriqué par HOSPAL INDUSTRIE, France), équipé d'un faisceau de fibres creuses AN69 de surface utile de 2 m², stérilisé à l'oxyde d'éthylène, est rincé par circulation dans le compartiment sang de 2 litres de sérum physiologique contenant 10.000 UI d'héparine non fractionnée.

20

Un circuit extracorporel de sang comprenant le dialyseur est ensuite connecté au circuit vasculaire d'un mouton après que 5.000 UI d'héparine non fractionnée ont été préalablement injectés au mouton.

25 La coagulation du sang dans le circuit extracorporel est intervenue après que le sang y a circulé 2 heures.

L'évolution du taux de TCK est représentée sur la figure 5, par la courbe 1.

Exemple 3b selon l'invention

30 Un dialyseur (dénomination commerciale NEPHRAL 300, fabriqué par HOSPAL INDUSTRIE, France), équipé d'un faisceau de fibres creuses AN69 de surface utile de 1,3 m², est traité par circulation dans le compartiment sang d'une solution de PEI fractionnée préparée comme dans l'exemple 1 (1g/L dans l'eau, circuit fermé sur 200 mL, 5 minutes, 200 mL/min.). Ce dialyseur
35 subit un second traitement par circulation dans le même compartiment d'une solution d'héparine non fractionnée (5 UI/mL dans une solution phosphatée (Na₂HPO₄ à 10 mM), circuit fermé sur 3 L, 200 mL/min., 5 ou 30 min.). Le dialyseur est ensuite purgé à l'air (0,3 bar pendant 30 s). Dans ces

conditions, la quantité de PEI fixé est de l'ordre de 15 mg/m^2 , la quantité d'héparine fixé est de 2.500 et 6.800 UI/ m^2 (mesurée selon la méthode de dosage de l'héparine en milieu non plasmatique).

- 5 Ce dialyseur est stérilisé par irradiation gamma.

Juste avant l'utilisation du dialyseur, 2 litres de sérum physiologique sont mis en circulation dans le compartiment sang pour le rincer. Un circuit extracorporel de sang comprenant le dialyseur est ensuite connecté au circuit vasculaire d'un mouton. Aucun anticoagulant n'est injecté dans le sang du mouton.

10

La circulation du sang dans le circuit extracorporel a pu être maintenue sans injection d'héparine dans le circuit extracorporel pendant 3 et 6 heures sans qu'il se produise de coagulation et les courbes 2 et 3 de la figure 5 indiquent que les niveaux de TCK sont restés normaux.

15

REVENDEICATIONS

- 5 1. Membrane semi-perméable composite comprenant une membrane semi-perméable support et un agent anticoagulant approprié au traitement du sang et du plasma par circulation extracorporelle, caractérisée en ce que :
- 10 - la membrane semi-perméable support est constituée essentiellement par un polyacrylonitrile, porteur de groupements anioniques ou anionisables ;
- la surface de la membrane semi-perméable support destinée à être mise en contact avec le sang ou le plasma est revêtue successivement :
- 15 . d'un polymère cationique, porteur de groupements cationiques aptes à former une liaison ionique avec les groupements anioniques ou anionisables du polyacrylonitrile, le polymère cationique comprenant des chaînes de taille suffisante pour ne pas traverser la
- 20 membrane semi-perméable support ;
- . et d'un agent anticoagulant, porteur de groupements anioniques, aptes à former une liaison ionique avec les groupements cationiques dudit polymère cationique.
- 25 2. Membrane selon la revendication 1, caractérisée en ce que les groupements anioniques ou anionisables du polyacrylonitrile sont choisis parmi les groupements sulfonique, phosphonique, carboxylique, sulfurique, phosphorique et parmi les sels des groupements précités.
- 30 3. Membrane selon la revendication 1, caractérisée en ce que les groupements anioniques ou anionisables du polyacrylonitrile sont des groupements sulfoniques acides ou des groupements sulfoniques salifiés.
- 35 4. Membrane selon la revendication 3, caractérisée en ce que la membrane semi-perméable support est constituée essentiellement par un copolymère d'acrylonitrile et de méthallylsulfonate de sodium.

5. Membrane selon une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le polymère cationique est une polyamine.
6. Membrane selon la revendication 5, caractérisée en ce que le polymère cationique est une polyéthylèneimine
- 5 7. Membrane selon la revendication 6, caractérisée en ce que la quantité de polyéthylèneimine déposée est comprise entre environ 1 mg et environ 30 mg par m² de membrane (bornes incluses).
8. Membrane selon une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le polymère cationique est préparé par ultrafiltration au moyen d'une
10 membrane semi-perméable qui est identique à la membrane semi-perméable support ou qui possède un seuil de coupure égal ou supérieur à celui de la membrane semi-perméable support, afin d'éliminer les chaînes de polymère cationique pouvant traverser la membrane semi-perméable support.
- 15 9. Membrane selon une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que l'agent anticoagulant porteur de groupements anioniques appartient à la famille des glycoaminoglycanes ayant une activité anticoagulante.
10. Membrane selon la revendication 9, caractérisée en ce que l'agent anticoagulant est essentiellement constitué d'héparine.
- 20 11. Membrane selon la revendication 10, caractérisée en ce que la quantité d'agent anticoagulant déposé est comprise entre environ 500 UI et environ 10.000 UI par m² de membrane (bornes incluses).
12. Echangeur pour le traitement du sang ou du plasma par circulation
25 extracorporelle comprenant deux compartiments séparés par une membrane semi-perméable ayant une surface orientée vers un premier compartiment destiné à la circulation de sang ou de plasma, caractérisé en ce que la membrane semi-perméable est une membrane semi-perméable composite selon une des revendications 1 à 11, et en ce la surface de la membrane orientée vers le premier compartiment est

revêtue successivement d'un polymère cationique et d'un agent anticoagulant anionique.

13. Echangeur selon la revendication 12, caractérisé en ce que la membrane semi-perméable composite est une membrane plane.
- 5 14. Echangeur selon la revendication 12, caractérisé en ce que la membrane semi-perméable composite est constituée par un faisceau de fibres creuses.
- 10 15. Procédé pour réduire le caractère thrombogène d'un échangeur pour le traitement du sang ou du plasma par circulation extracorporelle comprenant deux compartiments séparés par une membrane semi-perméable ayant une surface orientée vers un premier compartiment destiné à la circulation de sang ou de plasma, le procédé comprenant les étapes successives suivantes:
 - 15 (a) ~~préparer une membrane semi-perméable sous la forme d'une membrane plane ou d'un faisceau de fibre creuse, à partir d'une~~ solution de polyacrylonitrile porteur de groupements anioniques ou anionisables;
 - (b) assembler les divers composants de l'échangeur, en particulier monter la membrane semi-perméable ou un faisceau de fibres
20 creuses dans un boîtier;
 - (c) préparer une solution contenant au moins un polymère cationique, porteur de groupements cationiques aptes à former une liaison ionique avec les groupements anioniques ou anionisables du polyacrylonitrile, le polymère cationique ne comprenant que des
25 chaînes de polymère de taille suffisante pour ne pas traverser la membrane semi-perméable, et porter cette solution au contact de la surface de la membrane semi-perméable destinée à être mise en contact avec le sang ou le plasma, l'étape (c) pouvant être réalisée avant ou après l'étape (b) ;

- (d) dans le cas où l'étape (c) est réalisée postérieurement à l'étape (b), purger l'échangeur de la solution contenant le polymère cationique;
- (e) préparer une solution contenant au moins un agent anticoagulant à l'état dissous, porteur de groupements anioniques aptes à former une liaison ionique avec les groupements cationiques dudit polymère cationique et porter cette solution au contact de la surface de la membrane semi-perméable destinée à être mise en contact avec le sang, l'étape (e) étant mise en œuvre après l'étape (c), mais avant ou après l'étape (b) ;
- (f) dans le cas où l'étape (e) est réalisée postérieurement à l'étape (b), purger l'échangeur de la solution contenant l'agent anticoagulant.
16. Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce que on rince la membrane semi-perméable pour éliminer l'excédent de polymère cationique non fixé, soit après l'étape (c) quand l'étape (c) est réalisée avant l'étape (b), ou après l'étape (d).
17. Procédé selon la revendication 15 ou 16, caractérisé en ce que on rince la membrane semi-perméable pour éliminer l'excédent d'agent anticoagulant non fixé, soit après l'étape (e) quand l'étape (e) est réalisée avant l'étape (b), ou après l'étape (f).
18. Procédé selon la revendication 15, 16 ou 17, caractérisé en ce que on stérilise l'échangeur lorsque la membrane semi-perméable à base de polyacrylonitrile, porteur de groupements anioniques ou anionisables, est revêtue dudit polymère cationique, puis on effectue, de façon extemporanée, le traitement à l'aide de la solution contenant au moins un agent anticoagulant.
19. Procédé selon la revendication 15, 16 ou 17, caractérisé en ce que on stérilise l'échangeur lorsque la membrane semi-perméable à base de polyacrylonitrile, porteur de groupements anioniques ou anionisables, est revêtue dudit polymère cationique et dudit agent anticoagulant.

- 5 20. Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le polymère cationique est préparé par ultrafiltration au moyen d'une membrane semi-perméable qui est identique à la membrane semi-perméable support ou qui possède un seuil de coupure égal ou supérieur à celui de la membrane semi-perméable support, afin d'éliminer les chaînes de polymère cationique pouvant traverser la membrane semi-perméable support.

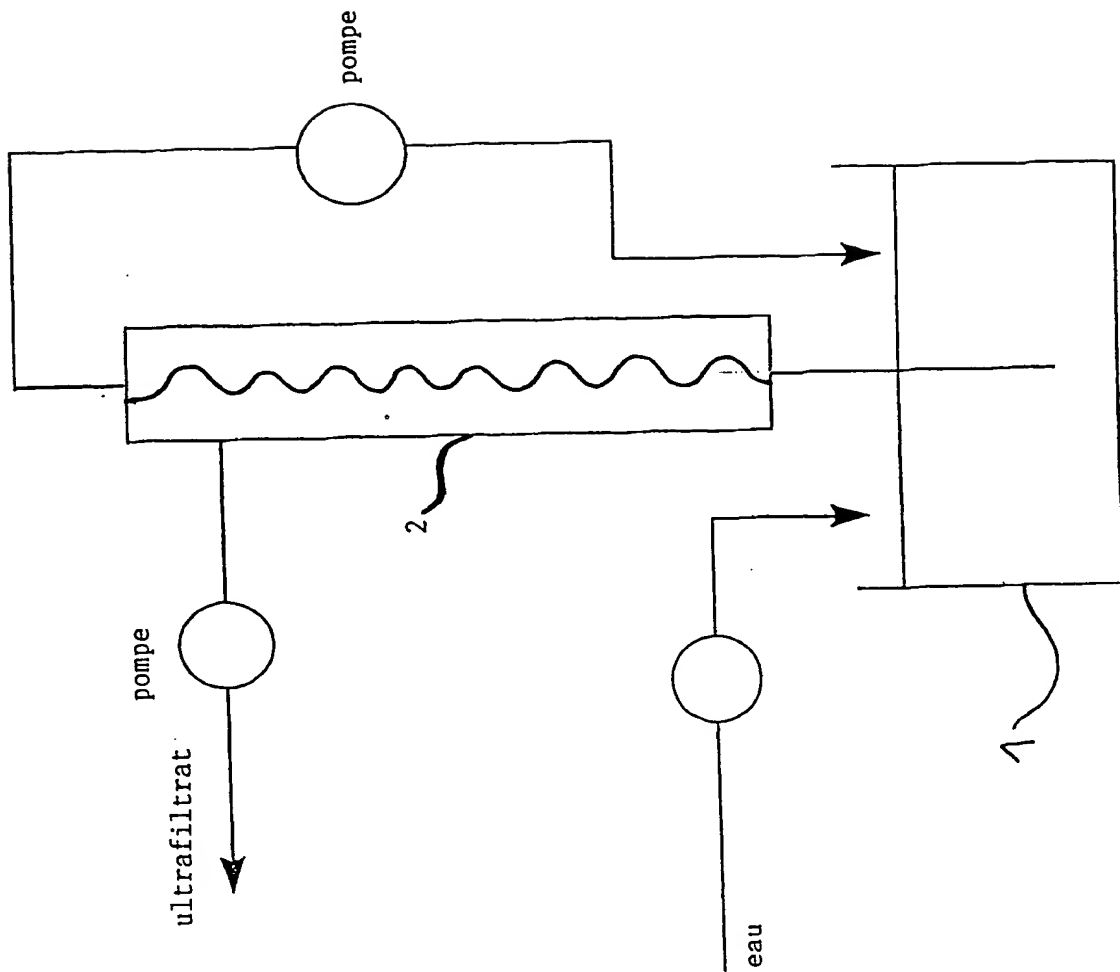


FIGURE 1

concentration en PEI de l'ultrafiltrat

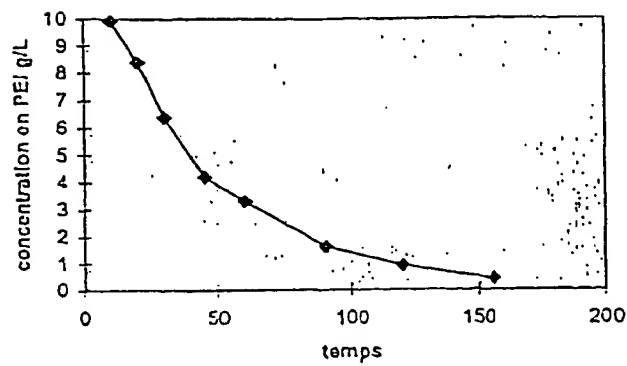


FIGURE 2

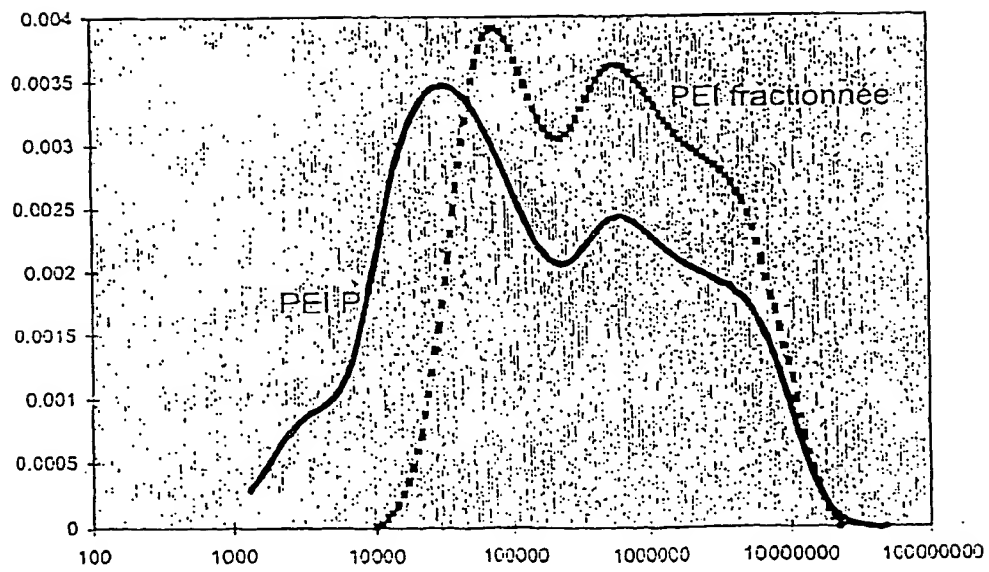
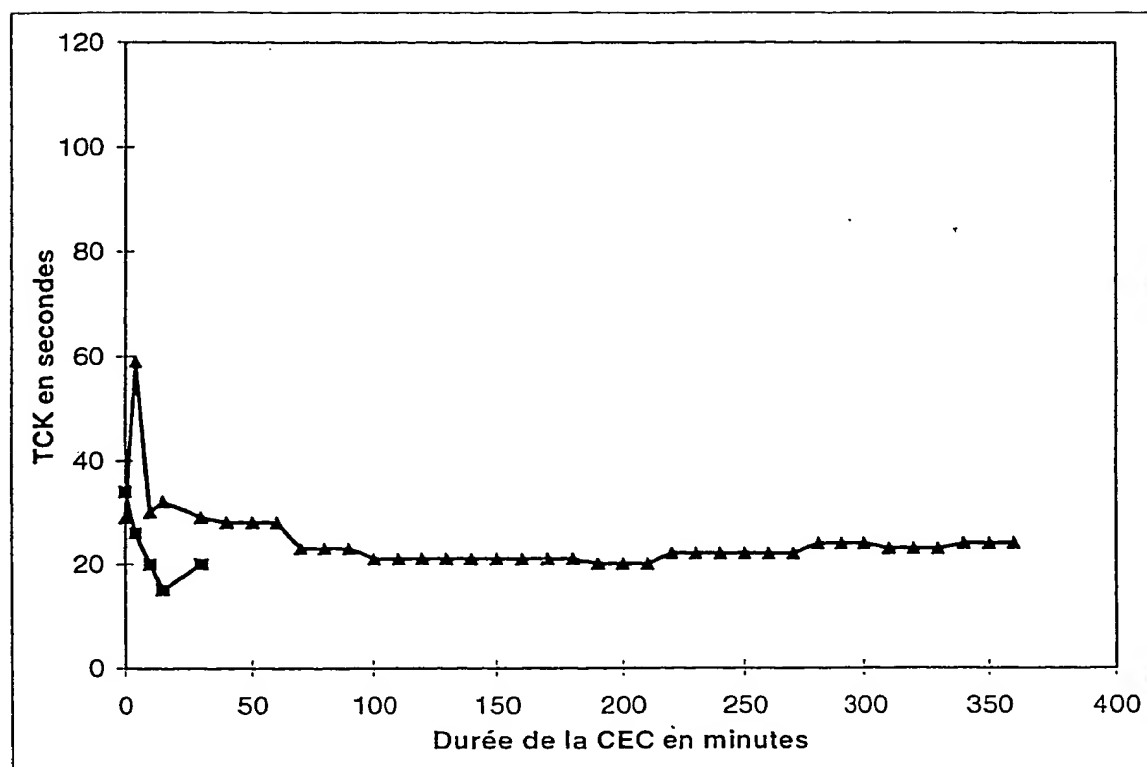
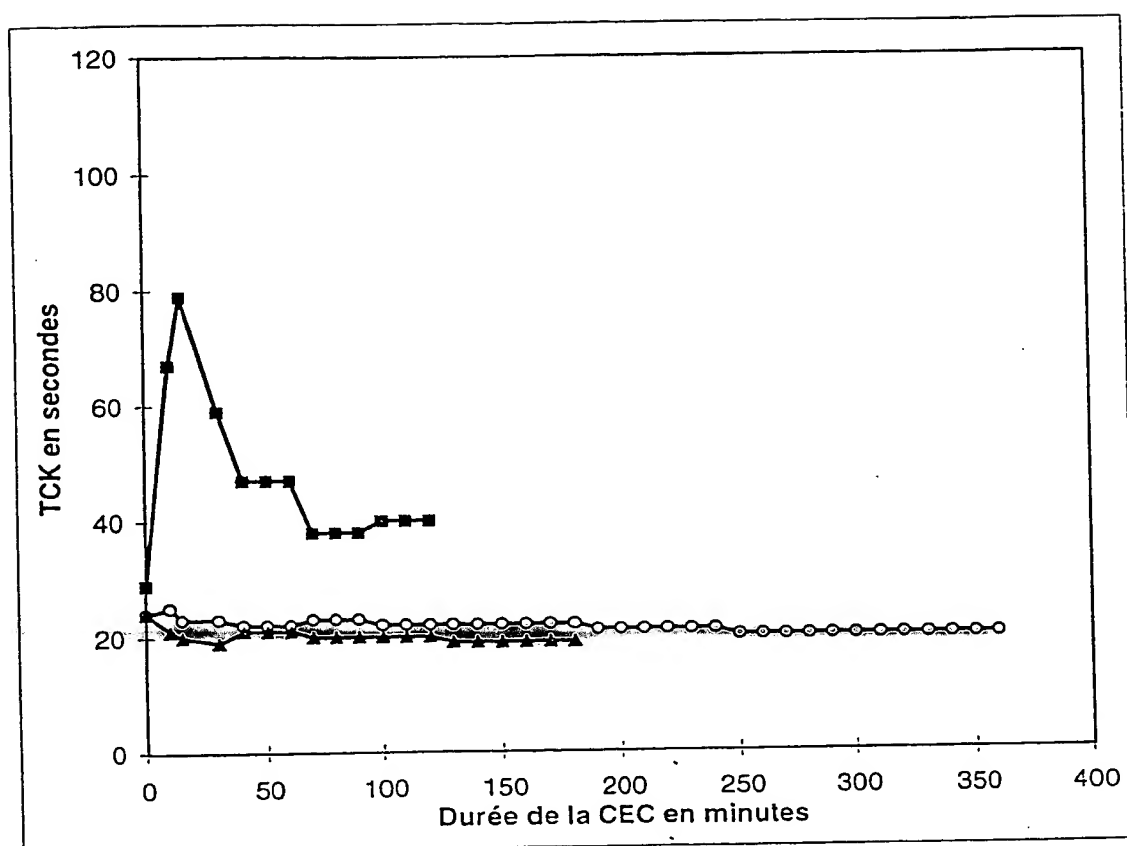


FIGURE 3



—■— Courbe 1
—▲— Courbe 2

FIGURE 4



—■— Courbe 1
—▲— Courbe 2
—○— Courbe 3

FIGURE 5